

1ej. 3

**LA TAURINA COMO ESTABILIZADOR  
DE MEMBRANAS EN LOS  
FOTORRECEPTORES**

**TESIS PROFESIONAL**

**ROSA MARIA ADEME BANCROFT**

**Facultad de Ciencias  
Biología**

**UNAM**

**1981**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

## INDICE

INTRODUCCION.....	1
MATERIALES Y METODOS.....	9
RESULTADOS.....	15
DISCUSION.....	36
REFERENCIAS.....	40

## INTRODUCCION

La taurina es un aminoácido azufrado (ácido 2-amino-etano-sulfónico) que parece ser un componente universal de los tejidos animales, a pesar de que no forma parte de las proteínas.

Se describió por primera vez en la bilis del toro (56) y fue sucesivamente identificado en los tejidos de diversos phyla de Invertebrados y de Vertebrados, hasta llegar a establecerse su distribución ubicua en el reino animal (29).

Se ha descrito la presencia de taurina en protozoarios y en los grupos más elementales de metazoarios como son poríferos, braquiópodos y sipuncúlidos. Los niveles más elevados de taurina se han descrito para el phylum de los moluscos. También se ha descrito su presencia en anélidos, artrópodos y equinodermos. Dentro del grupo de los Vertebrados, se ha identificado la presencia de taurina en diversos tejidos de Urocordados, así como en gran número de tejidos del grupo de los Cordados. Las concentraciones más elevadas de taurina se encuentran en el hígado, riñón, bazo, músculo y tejido nervioso (29).

A pesar de la amplia distribución de la taurina en los tejidos animales, aún no se conocen totalmente los mecanismos de su síntesis. Algunas especies, tales como el hombre y el gato, obtienen los requerimientos de taurina por la dieta, y son incapaces de sintetizarla, en tanto que otras especies presentan varias vías metabólicas para su formación.

La cisteína es el precursor de la taurina, a partir de la cual puede formarse a través de varias vías metabólicas diferentes. Parece ser que la vía preferente es aquella que involucra la oxidación de cisteína a ácido cisteín sulfónico seguida por una descarboxilación, dando lugar a la formación de hipotaurina la cual se oxida originando la taurina (1, 8, 16). Los intermediarios de esta vía y las enzimas correspondientes han sido encontradas en la mayor parte de los tejidos animales, incluyendo el tejido nervioso (4). La degradación metabólica de la taurina en los tejidos animales es sumamente lenta, habiéndose descrito solamente, su conversión a ácido isotiónico, transformación que probablemente ocurre debido a una transaminación (24, 43), sin embargo este proceso parece ser demasiado lento como para poderlo considerar como la vía de degradación fisiológica de la taurina. Esto no debe interpretarse como un indicio de una lenta utilización de la taurina por los tejidos; el recambio de taurina es muy rápido en tejidos como el riñón, el hígado, el páncreas y las glándulas suprarrenales, es intermedio en el bazo, pulmón, intestino y gónadas, y finalmente es lento en músculo, corazón y cerebro (53). A pesar de su ubicuidad en los tejidos animales, aún no se ha identificado la función de la taurina, pero el hecho de que esté presente desde los grupos más elementales en la escala zoológica, es indicio de su participación en alguna o algunas funciones características de múltiples sistemas. Las concentraciones más elevadas de taurina en los tejidos animales se encuentran en tejidos excitables tales como el músculo, corazón y sistema nervioso, en los que alcanza niveles de 10 a 40 mM.

En el sistema nervioso, la taurina se encuentra con notable constancia en todas las especies hasta ahora estudiadas; pero su participación en la función nerviosa aún se desconoce. Se encuentra distribuída en forma heterogénea (10, 18) en las diferentes regiones del sistema nervioso central (SNC) encontrándose los niveles más altos en la corteza cerebral, hipocampo, bulbo raquídeo y cerebelo (10, 18, 52). Se han descrito efectos de este aminoácido sobre funciones reguladas por centros nerviosos tales como hipotermia, ataxia, y una cierta acción sobre los centros reguladores del hambre y de la sed en el hipotálamo (22, 23, 51, 55).

La observación de que las concentraciones de taurina disminuyen en el foco epiléptico (57), así como sus niveles circulantes en suero de epilépticos (58), llevó a probar el efecto de la taurina como anticonvulsivante. Tanto en modelos experimentales de epilepsia (27, 28, 30, 57) como en epilepsia en humanos (28, 47, 54), la taurina presenta un efecto protector notable contra las alteraciones de la excitación nerviosa. El mecanismo mediante el cual la taurina puede estar ejerciendo su acción anticonvulsivante se desconoce hasta ahora. Sin embargo estos efectos y su localización en el tejido nervioso en concentraciones elevadas han sugerido su participación en el control de los mecanismos que regulan la excitabilidad nerviosa. Esta acción podría ser mediada a través de una posible acción como neurotransmisor. La aplicación iontóforética de taurina produce efectos depresores en la mayoría de las neuronas del sistema nervioso (11, 12, 13, 40). La acción inhibitoria de la taurina está asociada con un incremento en la conductancia de la membrana probablemente a cloruros que da lugar a una hiperpo-

larización (12). Sin embargo, el efecto hiperpolarizante de la taurina, es antagonizado por la bicuculina y la estricnina, que son antagonistas del GABA y la glicina respectivamente (19). Hasta la fecha no ha sido posible encontrar un antagonista específico de la acción de la taurina. Por otra parte su acción depresora es muy generalizada y poco específica, por lo cual se ha planteado la posibilidad alternativa de su acción como neuromodulador en relación con el control de la excitabilidad neuronal. También en apoyo de que el efecto depresor de la actividad neuronal de la taurina no parece ser totalmente responsable de su acción sobre la excitabilidad, se encuentra la observación de que el GABA y la glicina, que presentan una actividad depresora mucho mas potente (11, 14), y que tienen las mismas restricciones que la taurina para atravesar la barrera hematoencefálica, tienen una acción anticonvulsivante mucho menos eficaz que la taurina (27, 28). Como una posibilidad alternativa se ha pensado que este aminoácido podría actuar como un estabilizador de membranas, reduciendo en esta forma la excitabilidad neuronal. Se puede considerar la función de la taurina como estabilizador de membranas si se define la estabilización como el cumplir con uno o mas de los siguientes criterios (26):

1. Mantenimiento de las funciones de la membrana, incluyendo el funcionamiento de procesos de acoplamiento precisos.
2. Protección de las funciones electrofisiológicas de la membrana.
3. Mantenimiento de la integridad de la membrana.
4. Resistencia a procesos líticos.

El efecto de la taurina sobre la translocación de cationes en una amplia gama de sistemas estudiados es compatible con una acción directa sobre la permeabilidad de la membrana y por tanto con una función como estabilizador

(26). Se ha observado que en los tejidos excitables la taurina modifica el flujo de iones a través de membranas, particularmente el de calcio y el de potasio, de alguna manera aún no conocida (15, 17, 59); esta acción podría explicar sus múltiples efectos sobre la excitabilidad nerviosa (2) al igual que sus efectos sobre tejidos contráctiles en estados no funcionales de éstos (3, 25). La acción estabilizadora de la taurina podría estar relacionada con los flujos de calcio en la vecindad de la membrana neuronal. Esta acción podría explicar sus efectos sobre la excitabilidad y su posible acción como estabilizador ya que es bien conocido que los niveles extracelulares de calcio incrementan o disminuyen la excitabilidad.

#### LA TAURINA EN LA RETINA

La relación de la taurina con la conductancia iónica en membranas puede ser de particular importancia en la función retiniana, puesto que las modificaciones en la permeabilidad iónica, constituyen el mecanismo básico de la excitación luminosa de los fotorreceptores (31).

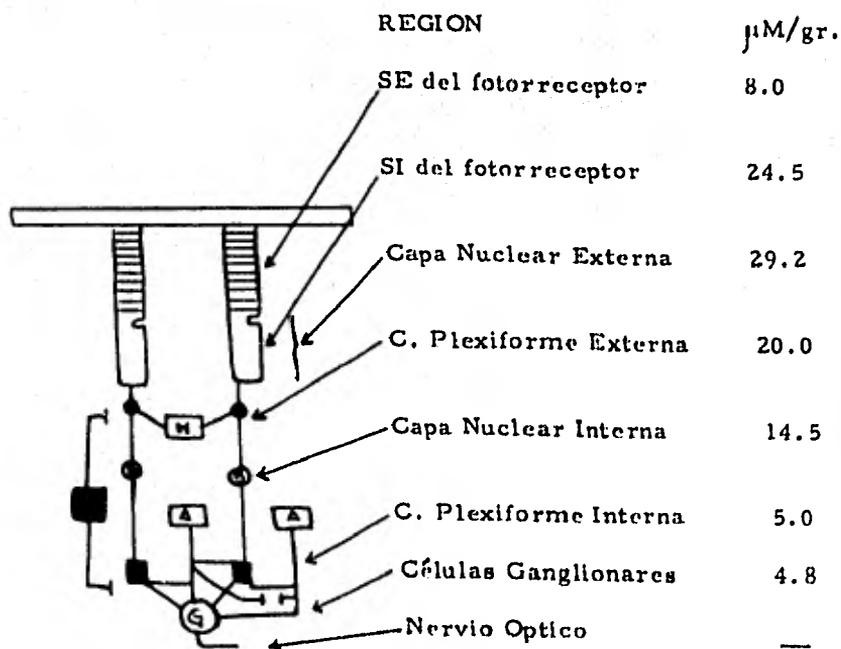
En la retina la concentración de taurina es mayor que en cualquier otra región del sistema nervioso central (32), siendo éste el aminoácido libre más abundante en la retina de todas las especies estudiadas hasta ahora (9, 35, 36, 38, 60), con una concentración que varía en un rango de 10 a 40 mM/kg, constituyendo del 40% al 50% del total de la poza de aminoácidos libres en este tejido (35, 38).

Los estudios realizados con el fin de determinar la localización de la tauri-

na en la retina, han revelado que la región de los fotorreceptores contiene mayor concentración de taurina que la retina interna (9, 36, 37) como se muestra en el esquema anexo. La función de la taurina en estas células de la retina altamente especializadas no se conoce; sin embargo, su participación en la fenología del receptor se sugiere por el hecho de que la taurina se libera de la retina en respuesta a la estimulación luminosa. Este efecto de la taurina parece ser específico ya que es el único aminoácido que se libera al estimular con luz, aún cuando la estimulación eléctrica provoca no solo la liberación de taurina sino también la liberación de otros aminoácidos (39, 41). El aumento de los niveles intracelulares de calcio en la retina, facilitan la liberación de aminoácidos tales como la taurina, el GABA y la glicina en medios tanto con como sin sodio (42). En presencia de sodio la liberación de los tres aminoácidos es similar, pero en un medio libre de sodio la liberación de taurina es mayor.

La hipótesis de que la mayor concentración de taurina se encuentra en los fotorreceptores y de que posiblemente esté actuando como un estabilizador de membranas, es fuertemente apoyada por estudios recientes que muestran que cuando se alimentan gatos con una dieta libre de taurina y con caseína como única fuente proteínica, éstos desarrollan una deficiencia de taurina en la retina (5, 20, 48, 49) y la subsecuente degeneración de las células fotorreceptoras (21, 44, 48, 49). Este mal funcionamiento de la retina ocurre de 15 a 45 semanas después de la eliminación de este aminoácido de la dieta. Se observa una disminución gradual en las amplitudes de los componentes del electroretinograma (ERG) correspondientes a conos y bastones, y

CONCENTRACION DE TAURINA EN LA RETINA DE POLLO (37).



se ha demostrado que el retraso temporal en la respuesta eléctrica de los conos coincide con la degeneración de las células fotorreceptoras. Ultraestructuralmente se encuentra una vesiculación, desorientación y desintegración de los segmentos externos (SE) de los fotorreceptores, en etapas tempranas y se continúan con la subsecuente degeneración de la población total de fotorreceptores (20).

Al medir los niveles de aminoácidos libres en plasma y en la retina para determinar si son afectadas las concentraciones de aminoácidos azufrados, concomitantemente a la degeneración específica de fotorreceptores, se ha observado que los niveles de taurina disminuyen notablemente en los gatos que han sido alimentados con caseína y sin taurina, mientras que los niveles de otros aminoácidos se mantienen dentro de los límites normales. Esta disminución en el contenido de taurina es un proceso progresivo y selectivo que precede a la muerte de las células fotorreceptoras.

La disminución en el contenido de taurina en la retina, podiese resultar de una disminución en la síntesis de este aminoácido ó en una disminución en la captación de taurina del plasma por este tejido. Ambos procesos podrían regular normalmente la concentración de taurina en retina, que a su vez depende de los niveles de taurina ó de sus precursores en el plasma (20).

Solamente las dietas que contienen taurina mantienen las amplitudes normales del electroretinograma y las concentraciones normales de taurina en retina y plasma (5,49). Estas observaciones han establecido un papel para la taurina exógena, como ser la responsable de mantener la función normal de la retina de gato. El mecanismo exacto a través del cual se generan las

perturbaciones descritas en el gato aún se desconocen, pero podría ser de gran interés para establecer la función de la taurina no sólo en la retina sino en otros tejidos excitables. Entre los problemas que han dificultado el estudio de la acción de la taurina en las funciones biológicas, se cuenta en primer lugar con la imposibilidad para disminuir los niveles de taurina en los tejidos, puesto que aparentemente los distintos mecanismos de síntesis y los procesos de transporte tisular se combinan en forma muy eficaz, haciendo prácticamente imposible producir experimentalmente una reducción en la concentración de taurina en las células.

Con el objeto de contribuir a esclarecer la función y mecanismo de acción de la taurina, y tomando como antecedente directo las observaciones efectuadas en los gatos con deficiencia de taurina en la dieta, se estudió el efecto protector de este aminoácido en un sistema sencillo, in vitro. Para el trabajo experimental se utilizó la observación de Schultze (50) quien describió que los segmentos externos de los fotorreceptores aislados de la retina de rana sufren una desintegración al ser expuestos a la luz, similar a lo que se observa en el gato in vivo.

Una preparación de este tipo es recomendable pues permite modificar las condiciones iónicas del medio extracelular, así como medir los procesos de transporte de iones que pudieran estar involucrados tanto en el fenómeno de desestabilización de la membrana por la luz, como en el mecanismo de la posible acción protectora de la taurina.

## MATERIALES Y METODOS

En el presente trabajo se utilizaron los segmentos externos de los fotorreceptores de ranas adultas (Rana berlandieri trilobata).

**AISLAMIENTO DE LOS SEGMENTOS EXTERNOS :** Se adaptaron las ranas a la obscuridad durante un periodo de 1 a 2 horas.

Las retinas se extrajeron en 10 ml de medio isotónico Krebs-bicarbonato que contenía las siguientes concentraciones mM de NaCl 118; KCl 4.7;

CaCl<sub>2</sub> 2.5; MgSO<sub>4</sub> 1.17; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2; NaHCO<sub>3</sub> 25; glucosa 5.6 pH 7.4,

bajo luz roja; las retinas se agitaron durante un minuto a velocidad media en el vortex, para desprender los segmentos externos (SE) de los fotorreceptores (figs. 1 y 2).

Los segmentos externos se colectaron mediante centrifugación a baja velocidad, 900 xg durante 10 min. a 4°C, y posteriormente se resuspendieron en el medio isotónico de Krebs-bicarbonato.

Una parte de la fracción de SE se expuso a 100 W de luz blanca durante dos horas y se mantuvo otra parte en la obscuridad como control.

Los SE se expusieron al efecto de diferentes aminoácidos tales como taurina, GABA, glicina y valina, y a diferentes medios de incubación como se indica mas adelante, con el objeto de caracterizar el transporte sobre el cual tiene efecto la luz y la taurina.

Los detalles experimentales se mencionarán en cada uno de los experimen-

tos correspondientes.

Los SE se cuantificaron utilizando la microscopía óptica contando el número de SE que presentaban desorganización de las membranas y los que no. Los diferentes medios de incubación que se utilizaron se prepararon modificando el medio básico Krebs-bicarbonato según se detalla a continuación:

- a) Medio sin calcio: El cloruro de calcio del medio Krebs-bicarbonato se elimina del medio de incubación,
- b) Medio sin sodio y con bicarbonato de potasio: El NaCl se substituyó por cloruro de colina con la misma osmolaridad y el bicarbonato de sodio por bicarbonato de potasio 25mM.
- c) Medio Krebs-Hepes: Se substituye el  $\text{NaHCO}_3$  por Hepes (n hidroxil n etil piperazina etil eter) 25 mM para mantener el pH.
- d) Medio Krebs- Tris: Se substituye el  $\text{NaHCO}_3$  por Tris ( Tris hidroxil metil amino metano)-HCl pH 7.4 25 mM para mantener el pH.
- e) Medio Sacarosa- $\text{NaHCO}_3$  : Se prepara con sacarosa 0.27 M y bicarbonato de sodio 25 mM.
- f) Medio sin cloro: El NaCl y KCl se substituyen por acetato de sodio 118 mM y acetato de potasio 4.7 mM respectivamente.
- g) Medio Sacarosa- NaCl- $\text{NaHCO}_3$ : Se prepara con NaCl 118 mM,  $\text{NaHCO}_3$  25 mM, glucosa 5.6 mM y sacarosa 22.8 mM 6 cloruro de colina 15.6 mM.
- h) Medio NaCl- $\text{CaCl}_2$ -  $\text{NaHCO}_3$ : Se prepara con NaCl 118 mM,  $\text{CaCl}_2$  2.5 mM,  $\text{NaHCO}_3$  25 mM, glucosa 5.6 mM y cloruro de colina 10.6 mM.

- i) Medio NaCl-CaCl<sub>2</sub>: Se prepara con NaCl 118 mM, CaCl<sub>2</sub> 2.5 mM, glucosa 5.6 mM y Tris-HCl pH 7.4 25 mM.
- j) Medio CaCl<sub>2</sub>- NaHCO<sub>3</sub>: Se prepara con cloruro de colina 118 mM, CaCl<sub>2</sub> 2.5 mM, NaHCO<sub>3</sub> 25 mM y glucosa 5.6 mM.
- k) Medio NaCl y NaHCO<sub>3</sub>: Se prepara el medio Krebs pero con NaCl 93 mM, cloruro de colina 25 mM y NaHCO<sub>3</sub> 50 mM.

CAPTACION DE ELEMENTOS RADIOACTIVOS : Con el objeto de tratar de caracterizar los iones involucrados en el proceso, los segmentos externos aislados equivalentes a 0.7-4.5 mg de proteína se incubaron en frío en un medio Krebs-bicarbonato que contenía los elementos radioactivos <sup>45</sup>Ca<sup>++</sup> 20 µCi/ml; <sup>22</sup>Na<sup>+</sup> 17.45 µCi/ml; <sup>14</sup>C- bicarbonato de sodio 4.16 µCi/ml; <sup>3</sup>H-agua 250,000 dpm/100 µl y Taurina 25 mM según se indica en los resultados, correspondientes a cada experimento.

Después de dos horas de exposición a la luz, la reacción se detuvo mediante la centrifugación por duplicado de alícuotas de 0.15 ml de la mezcla de incubación en una centrífuga Microfuga Beckman Modelo 152 durante 30 seg.; las pastillas se lavaron superficialmente con agua fría bidestilada, se solubilizaron con 0.2 ml de NCS ( Tissue Solubilizer, Amersham/Searle) y se transfirieron a viales. La radioactividad acumulada en el tejido solubilizado se midió después de la adición de 10 ml de Tritosol preparado con PPO 3 g., tritón X-100 27 ml., Etilenglicol 37 ml., Etanol 106 ml., y Xilol 600 ml. para un volumen final de 1 Lt., en un contador de centelleo Packard para muestras líquidas Modelo 2425.

**DETERMINACION DE PROTEINAS :** Se llevó a cabo por el método de Lowry y colaboradores (33), utilizando una curva patrón de albúmina desarrollada paralelamente a los datos experimentales.

**MICROSCOPIA ELECTRONICA :** Los segmentos externos de los fotorreceptores se fijaron en glutaraldehído al 3 % en un amortiguador de fosfatos 0.1 M a un pH de 7.4, y fueron postfijados en  $OsO_4$  al 2% en el mismo amortiguador; las muestras se deshidrataron en serie gradual de etanol (30-100%) y óxido de propileno. Se infiltraron con Epon 812 diluido 1:1 con óxido de propileno y se polimerizaron en resina sin diluir (34). Se obtuvieron cortes finos de 60-90 nm en un ultramicrotomo con cuchilla de diamante Reichert  $UMO_3$ , fueron observados en un microscopio electrónico Jeol 100B operado a 60 KV después de ser contrastados con acetato de uranio y citrato de plomo (45).

Fig. 1. Esquema que muestra los conectores citoplásmicos y citar en los fotorreceptores de *Xestheridion*. La agitación en el vertice muestra la capucha de los fotorreceptores en el punto que se indica en la flecha.

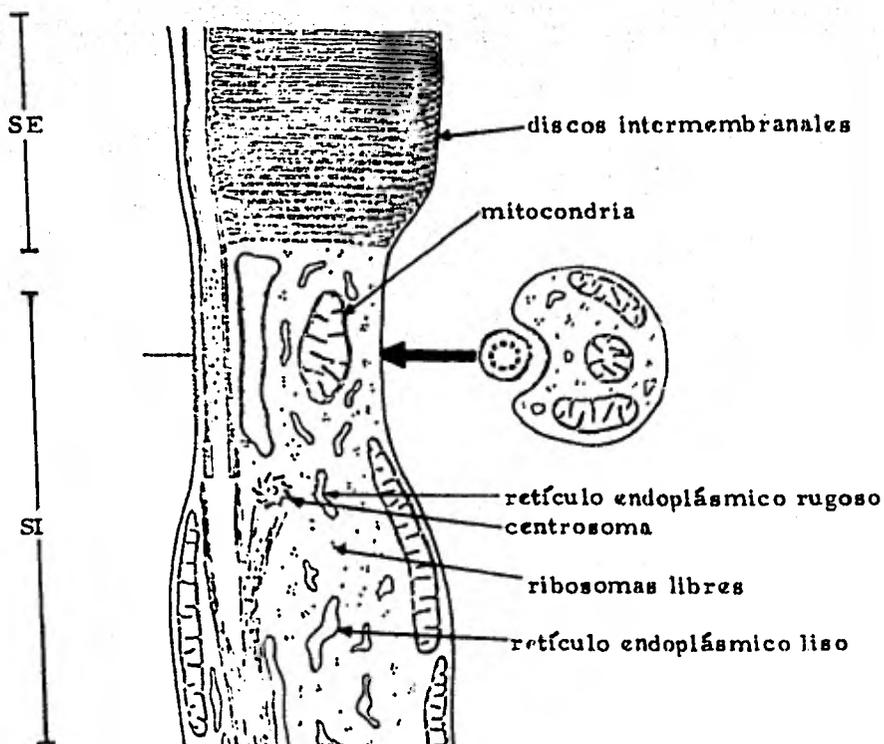


fig. 1 Esquema que muestra las conexiones citoplásmica y ciliar en los fotorreceptores de Vertebrados. La agitación en el vortex provoca la ruptura de los fotorreceptores en el punto marcado con la flecha gruesa.

100  $\mu$



Fig. 2. Preparación de serpiente y otros animales fotoreceptores  
a la luz de la retina. Se ve por el método de Goldmann,  
el contenido de la retina.

## RESULTADOS

### EFFECTO DE LA LUZ SOBRE LA ESTRUCTURA DE LOS SE

Los segmentos externos (SE) de los fotorreceptores aislados de la retina de rana incubados en frío en un medio Krebs-bicarbonato a pH 7.4 y expuestos a la luz durante dos horas, sufren una desorganización en su estructura membranosa la cual se distingue claramente al observarlos bajo microscopio óptico. Los SE afectados por la luz presentan una disposición visible de los discos intermembranales y un desarreglo general de su estructura membranosa original (fig. 3) lo cual no se distingue en aquellos SE que se han mantenido en la oscuridad, en los que se observan como bastones con una estructura membranosa bien definida (fig. 4).

Al examinar los SE expuestos a la luz con el microscopio electrónico se observa claramente la desintegración y desorganización de las membranas que constituyen el SE. En éstos se pierde toda secuencia organizada de los discos intermembranales y de la membrana plasmática (fig. 5). Esta desorganización membranosa no se observa en aquellos SE mantenidos en la oscuridad, los cuales conservan íntegra su estructura original (fig. 6).

### EFFECTO DE LA TAURINA SOBRE LA ESTRUCTURA DE LOS SE EXPUESTOS A LA LUZ.

Al incubar los SE en el medio Krebs-bicarbonato que contenía taurina en una concentración de 25 mM y después de dos horas de exposición a la luz,



Fig. 1. Segmentos externos de fotorreceptores aislados de retina de rana incubados en medio fixador y montados después de 2 horas de exposición a la luz ultravioleta de línea 3300 Å.



Fig. 1. Segmentos externos de fotorreos entrecruzados de retina de cone incubados en medio Krebs (con carbonato mantenido en la obscuridad) (contraste de fase,  $\times 10,000$ ).



Fig. 5. Micrografía electrónica de segmentos externos de fotorreceptores de retina de rana incubados en medio Krebs-bicarbonato después de 2 horas de exposición a la luz (2600X).



fig. 6 Micrografía electrónica de SE de fotorreceptores de retina de rana incubados en medio Krebs-bicarbonato mantenidos en la obscuridad (2000 X).

no se observó la desorganización membranal típica producida por la iluminación; por el contrario, estos SE al examinarlos por microscopía electrónica presentaron una configuración similar a la observada en los SE mantenidos en la obscuridad (fig. 7), por tanto la taurina a esta concentración claramente tiene una acción protectora de los SE contra la desorganización membranal que cuantitativamente va del 80% al 90%.

Se probó el efecto de concentraciones menores de taurina, con 5 y 10 mM, sobre la desorganización de los SE expuestos a la luz y nuevamente se observó el efecto descrito para concentraciones de 25 mM presentándose una protección de 68% y 69% a concentraciones de 5 y 10 mM respectivamente. Al aumentar la concentración de taurina a 50 mM no se observó diferencia con respecto a la concentración de 25 mM (fig. 8).

Con el objeto de explorar la especificidad del efecto de la taurina se estudió la acción de otros aminoácidos tales como el GABA y la glicina.

Estos aminoácidos presentes en el medio de incubación Krebs-bicarbonato a concentraciones de 5 y 10 mM mostraron un efecto similar al de la taurina, protegiendo a los SE de los fotorreceptores contra la desorganización membranal (fig. 9).

Por otra parte la valina, aminoácido neutro a pH fisiológico y que no tiene ninguna acción sobre la actividad neuronal, no tuvo una acción protectora contra el efecto de la luz sobre los SE (fig. 9).

Con objeto de conocer los posibles mecanismos responsables de esta desorganización membranal se modificó la concentración iónica del medio, substituyendo los diferentes iones.



Fig. 7 Micrografía electrónica de SE de fotorreceptores de retina de rana incubados en medio Krebs-Hlo carbonato con 25 mM de taurina después de dos horas de exposición a la luz (6000X).

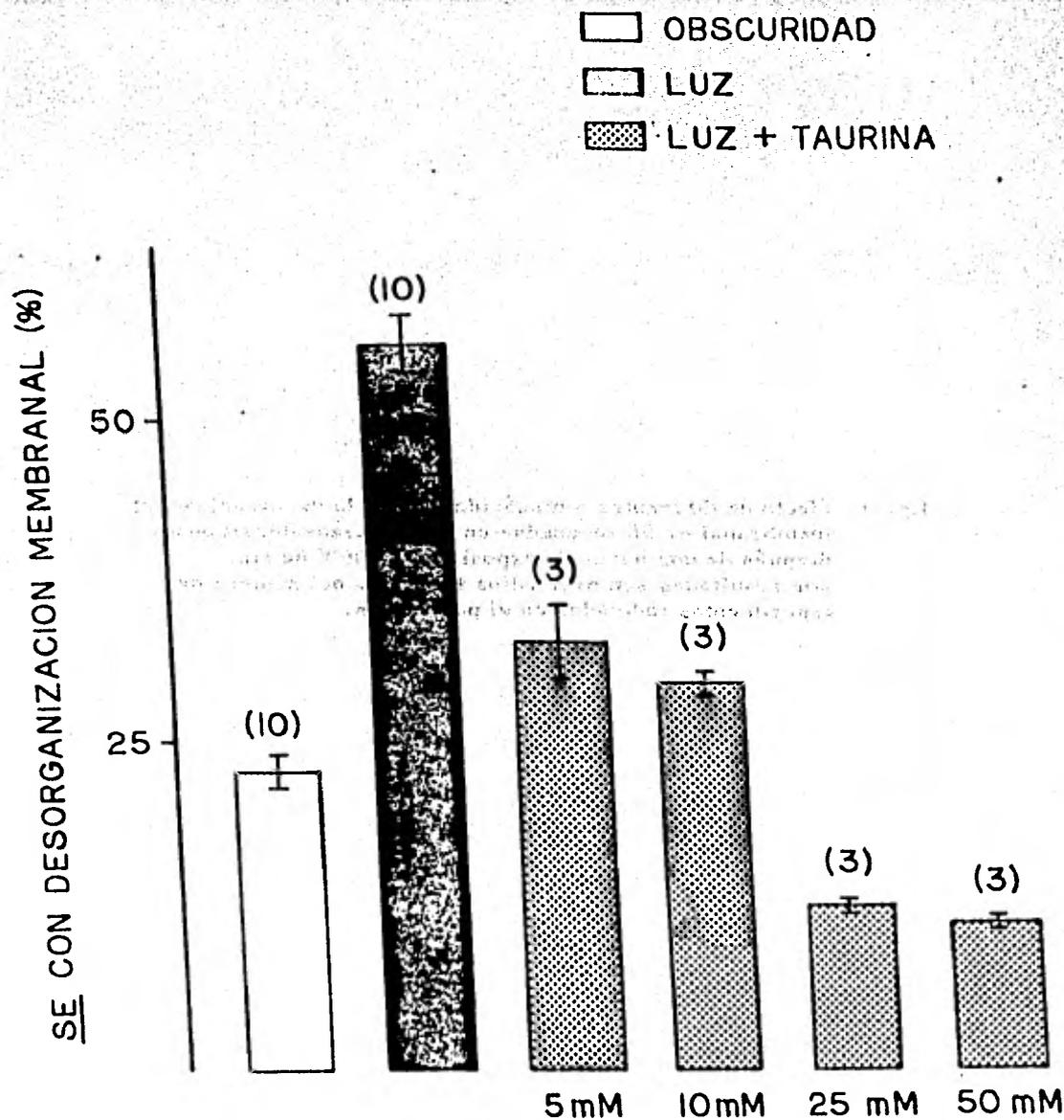


fig. 8. Efecto de las diferentes concentraciones de taurina sobre la desorganización membranaral de SE incubados en medio Krebs-bicarbonato después de dos horas de exposición a la luz. Los resultados son promedios  $\pm$  S.E.M. del número de experimentos indicados en el paréntesis.

□ OBSCURIDAD  
 □ LUZ  
 ▨ LUZ + LAURINA

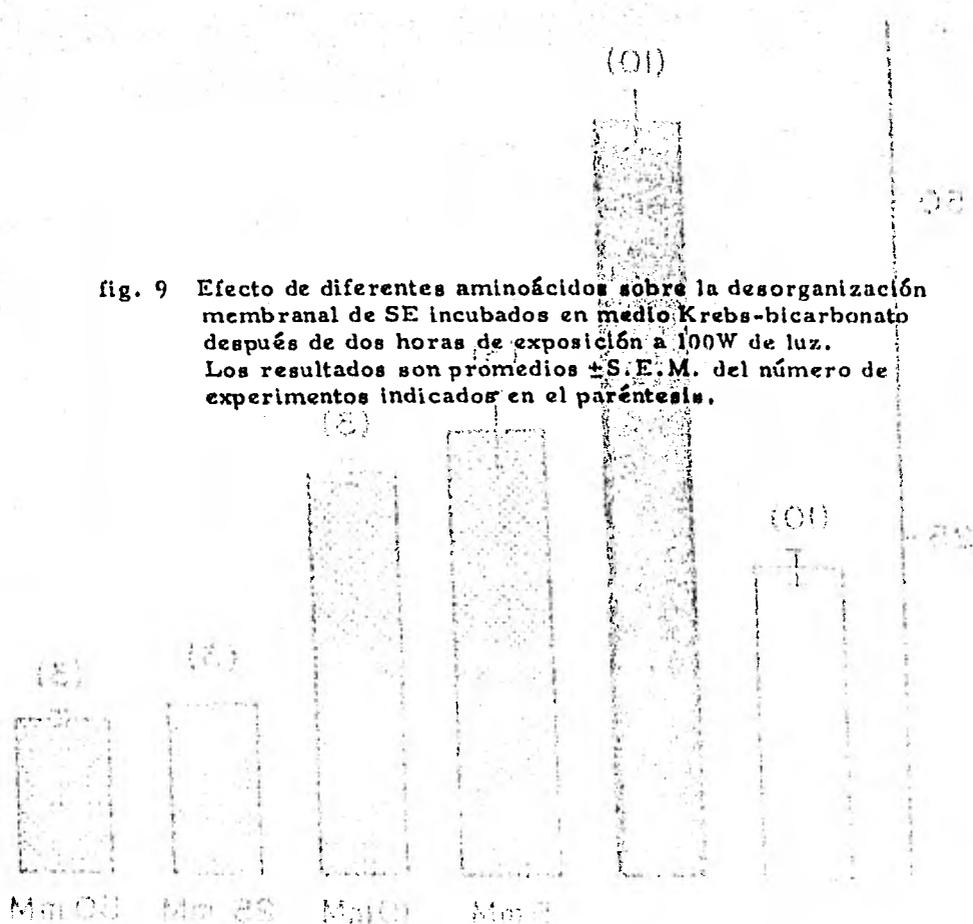
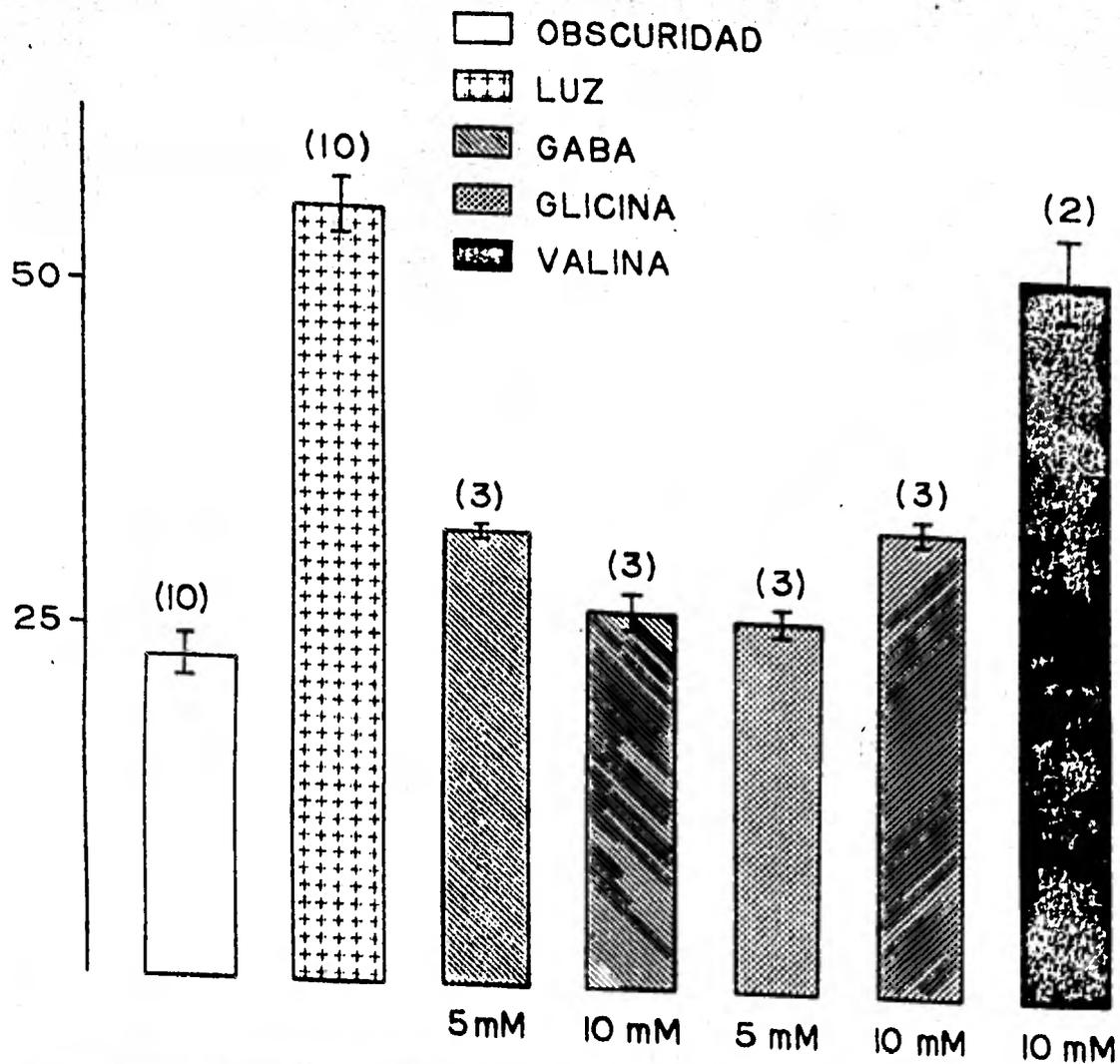


fig. 9 Efecto de diferentes aminoácidos sobre la desorganización membranal de SE incubados en medio Krebs-bicarbonato después de dos horas de exposición a 100W de luz. Los resultados son promedios  $\pm$  S.E.M. del número de experimentos indicados en el paréntesis.

(2) LAMARCA HONDA INMAGROSAO 100 20

SE CON DESORGANIZACION MEMBRANAL (%)



## EFFECTO DEL CALCIO SOBRE LA ESTRUCTURA DE LOS SE EXPUESTOS A LA LUZ.

Con el objeto de explorar la dependencia al calcio para la aparición de la desorganización membranal de los SE iluminados, éstos se incubaron en un medio libre de calcio. Los resultados encontrados muestran que este catión divalente no parece estar involucrado directamente en el fenómeno estudiado (Tabla I), sin embargo no debe excluirse su posible participación puesto que la captación de calcio por los SE disminuye en un 25% en aquellos segmentos externos que fueron iluminados con respecto a los que se mantuvieron en la obscuridad. La presencia de taurina 25 mM redujo aún mas la captación de calcio en un 8-10% (Tabla II).

## EFFECTO DEL BICARBONATO DE SODIO SOBRE LA DESORGANIZACION MEMBRANAL DE SE.

En los SE expuestos a la luz a 4°C en un medio de incubación Krebs-bicarbonato en el cual se substituye el bicarbonato de sodio por otros amortiguadores con el objeto de mantener el pH, tales como Tris y Hepes, el efecto de desorganización de las membranas por la luz ya no se observa (Tabla III). La figura 10 muestra el efecto de diferentes concentraciones de bicarbonato de sodio en relación con la desorganización de los SE causada por la luz. El por ciento de desorganización membranal observada con relación a la concentración de bicarbonato varió en rango de 2.5 a 12.5 mM. A partir de esta concentración la desorganización es igual a la observada en el medio de incubación que contenía 25 mM de bicarbonato de sodio. Cuando la con-

TABLA 1. EFECTO DE UN MEDIO DE INCUBACION LIBRE DE CALCIO Y DE LA TAURINA 25 mM SOBRE LA DESORIENTACION MEMBRANAL DE SE EXPUESTOS A LA LUZ.

MEDIO DE INCUBACION	<u>SE</u> CON DESORIENTACION MEMBRANAL (%)		
	Obscuridad	Luz	Luz + Taurina
Krebs-bicarbonato	23.7 ± 0.9 (9)	56.5 ± 2.6 (9)	12.4 ± 0.3 (3)
Medio sin calcio	26.2 ± 1.7 (6)	42.4 ± 3.1 (6)	19.9 ± 0.5 (3)

Los resultados son promedios ± S.E.M. del número de experimentos indicados en el paréntesis.

TABLA II. EFECTO DE LA LUZ Y DE LA TAURINA 25 mM  
SOBRE LA CAPTACION DE  $^{45}\text{Ca}^{++}$  EN SE.

CONDICIONES DE INCUBACION	CAPTACION (nmolas/mg Protefna)
	$^{45}\text{Ca}^{++}$
Obscuridad	4.0 ± 0.6 (4)
Obscuridad + Taurina	3.7 ± 0.5 (4)
Luz	3.0 ± 0.5 (4)
Luz + Taurina	2.7 ± 0.2 (4)

Los resultados son promedios ± S.E.M. del número de experimentos indicados en el paréntesis.

TABLA III. EFECTO DEL BICARBONATO DE SODIO, TRIS Y HEPES SOBRE LA DESORIENTACION MEMBRANAL DE SE EXPUESTOS A LA LUZ.

Medio de Incubación	<u>SE</u> con desorientación membranar (%)	
	Obscuridad	Luz
Krebs-bicarbonato	23.7 ± 0.9 (9)	56.5 ± 2.6 (9)
Sacarosa 0.32 M	12.0 ± 0.2 (3)	18.0 ± 0.2 (3)
Sacarosa-NaHCO <sub>3</sub> (25 mM)	10.1 ± 1.3 (3)	18.6 ± 2.5 (3)
Krebs-Tris, NaCl (118 mM)	17.5 ± 0.7 (3)	19.6 ± 0.2 (3)
Krebs-Tris, NaCl (143 mM)	21.6 ± 0.4 (3)	36.8 ± 0.7 (3)
Krebs-Hepes	24.8 ± 0.5 (3)	22.2 ± 1.0 (3)

Los resultados son promedios ± S.E.M. del número de experimentos indicados en el paréntesis.

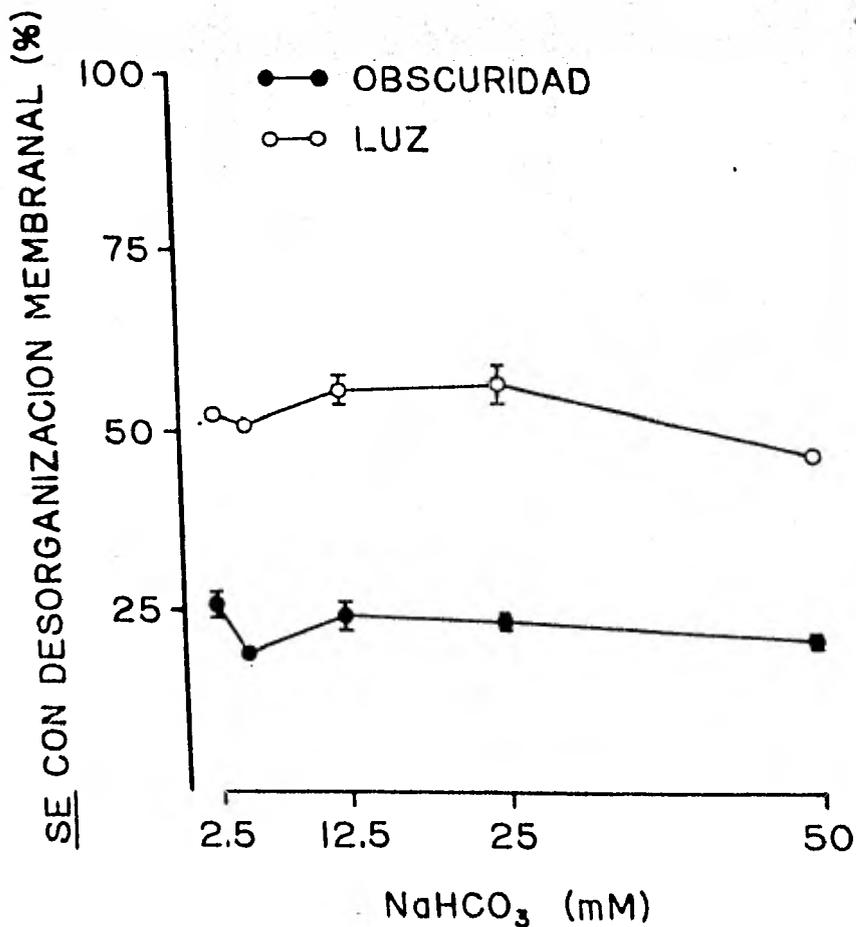


Fig. 10. Efecto de diferentes concentraciones de bicarbonato de sodio sobre la desorganización membranal de SE expuestos a la luz. (●—●) Oscuridad (○—○) Luz. Cada punto de la gráfica es el promedio  $\pm$  S.E.M. de 3 experimentos.

centración de bicarbonato de sodio se incrementó a 50 mM, no se observó aumento en la desorganización de las membranas de los SE cuando se expusieron a la luz.

Con el objeto de conocer si únicamente la presencia de bicarbonato era responsable de la desorganización de las membranas de los SE, éstos se expusieron a la luz en un medio de incubación constituido por sacarosa isotónica que contenía 25 mM de bicarbonato de sodio. En estas condiciones no se observó el efecto de desorganización en las membranas (Tabla III) al compararlo con el medio Krebs-bicarbonato.

#### EFFECTO DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE CLORURO DE SODIO SOBRE LA DESORGANIZACION MEMBRANAL DE SE.

Cuando los SE se exponen a la luz a 4°C y se incuban en un medio Krebs-bicarbonato en el cual se varía la concentración de cloruro de sodio de 25 mM a 118 mM se observó una creciente ruptura de los SE paralela al incremento en la concentración de NaCl.

La presencia de 25 mM de taurina en el medio de incubación protegió en todos los casos contra la ruptura membranal causada por la luz (fig. 11).

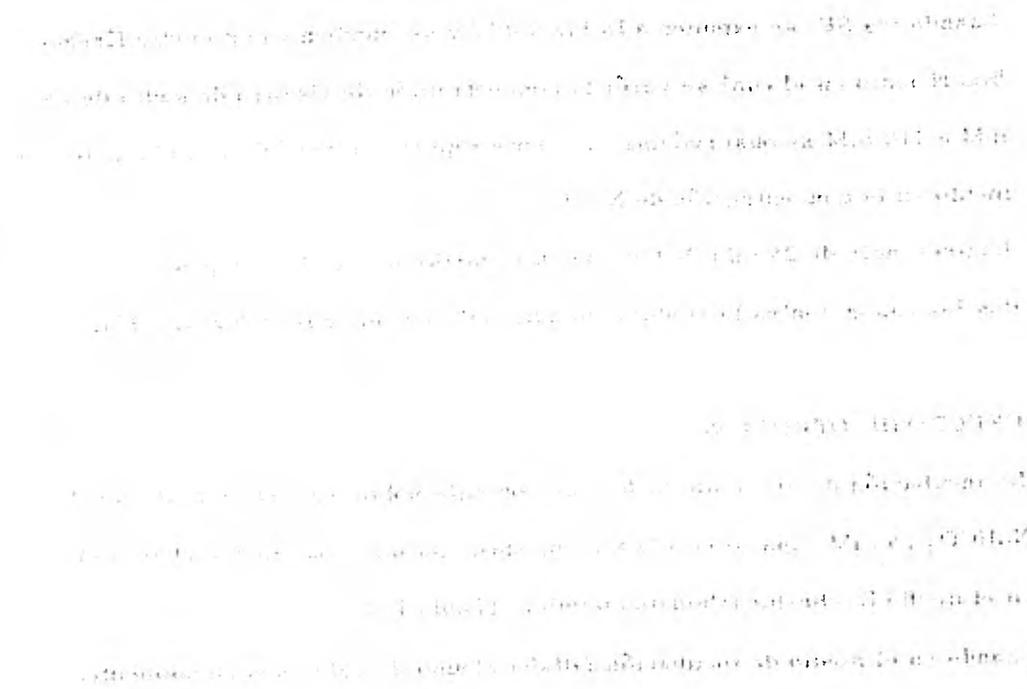
#### EFFECTO DE OTROS IONES.

La incubación de SE en un medio que contenía solamente 118 mM de NaCl y  $\text{NaHCO}_3$  25 mM expuestos a la luz, produjo los mismos efectos observados en el medio Krebs-bicarbonato completo (Tabla IV).

Cuando en el medio de incubación faltaba alguno de estos dos componentes

Se observó un efecto de la taurina de 25 mM y de diferentes concentraciones de NaCl sobre la desorganización membranal de SE expuestos a 100 W de luz. Los resultados son promedios del número de experimentos indicados en el paréntesis  $\pm$  S. E. M.

**fig. 11 Efecto de la taurina 25 mM y de diferentes concentraciones de NaCl sobre la desorganización membranal de SE expuestos a 100 W de luz. Los resultados son promedios del número de experimentos indicados en el paréntesis  $\pm$  S. E. M.**



SE CON DESORGANIZACION MEMBRANAL (%)

OBSCURIDAD  
LUZ  
LUZ + TAURINA

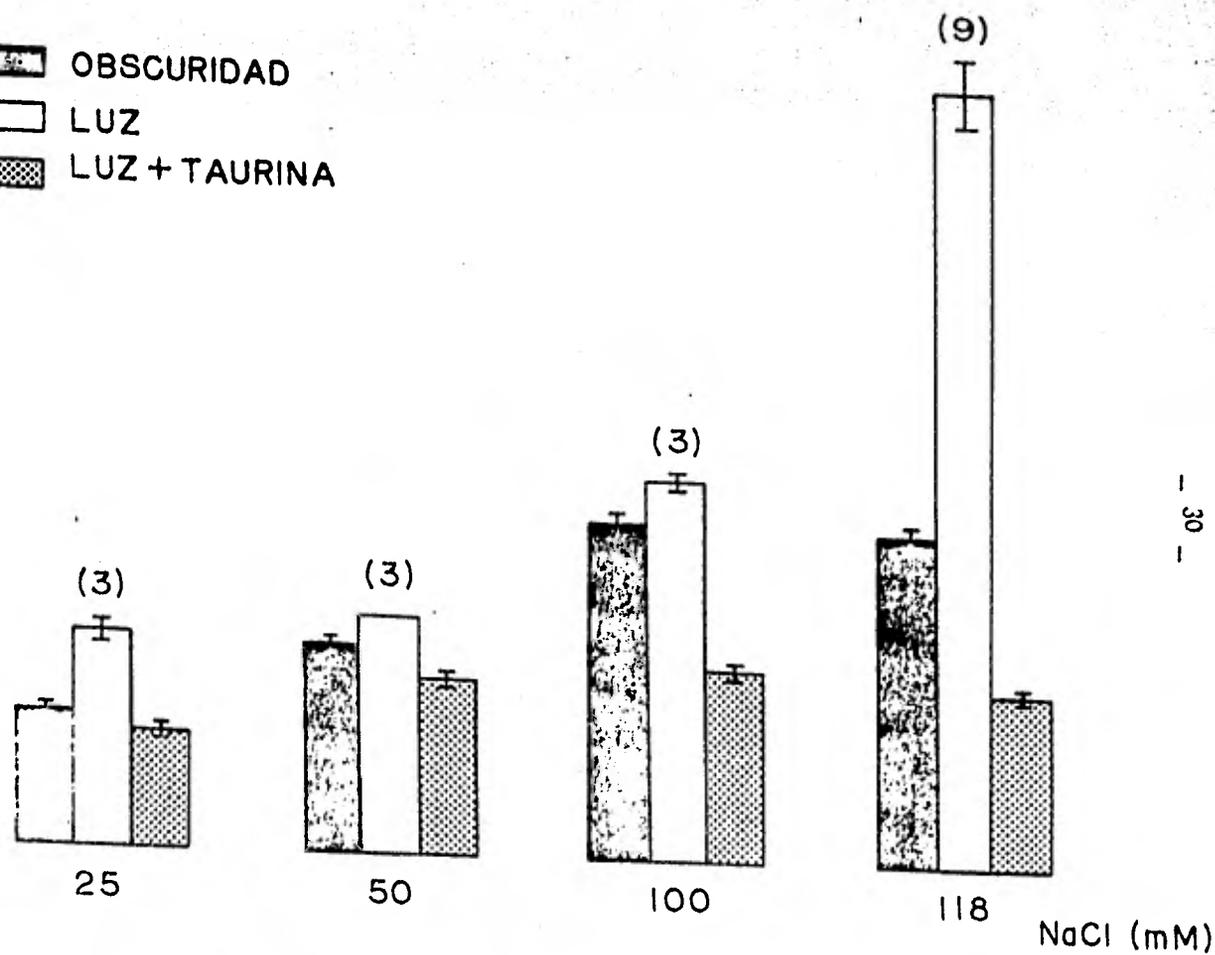


TABLA IV. EFECTO DE DIFERENTES MEDIOS DE INCUBACION SOBRE LA DESORIENTACION MEMBRANAL DE SE EXPUESTOS A LA LUZ.

Medio de Incubación	<u>SE</u> con desorientación membranal (%)	
	Obscuridad	Luz
Krebs-bicarbonato	23.7 ± 0.9 (9)	56.5 ± 2.6 (9)
Sacarosa-NaCl(118mM)-NaHCO <sub>3</sub> (25mM)	24.4 ± 1.7 (3)	49.6 ± 0.7 (3)
Krebs sin NaCl y con KHCO <sub>3</sub> (25mM)	13.9 ± 1.3 (3)	16.9 ± 0.9 (3)
NaHCO <sub>3</sub> (50mM) y NaCl(93mM)	21.1 ± 0.5 (3)	62.8 ± 0.5 (3)
NaCl(118mM), CaCl <sub>2</sub> (2.5mM), NaHCO <sub>3</sub> (25mM)	23.4 ± 0.7 (3)	66.0 ± 6.5 (3)
NaCl(118mM) y CaCl <sub>2</sub> (2.5mM)	18.7 ± 0.3 (3)	20.3 ± 0.3 (3)
CaCl <sub>2</sub> (2.5mM) y NaHCO <sub>3</sub> (25mM)	10.3 ± 0.4 (3)	7.7 ± 0.4 (3)
Medio sin cloro	8.9 ± 0.3 (3)	13.1 ± 0.6 (3)

Los resultados son promedios ± S.E.M. del número de experimentos indicados en el paréntesis.

no se presentó el efecto.

Por otra parte cuando los SE se incubaron en un medio libre de cloro no se observó el efecto desorganizador inducido por la luz (Tabla IV).

#### CAPTACION DE $^{22}\text{Na}^+$ Y DE $^{14}\text{C}$ -BICARBONATO DE SODIO.

De los datos revisados hasta aquí es evidente que el efecto de la luz sobre la estructura de los SE depende de la presencia de NaCl y de bicarbonato en el medio de incubación. Por esta razón consideramos necesario identificar el transporte de  $^{22}\text{Na}^+$  y de  $^{14}\text{C}$ -bicarbonato de sodio en los SE en diferentes condiciones experimentales estudiadas tanto en presencia como en ausencia de taurina a una concentración de 25 mM.

En la Tabla V se muestra que la acumulación de  $^{22}\text{Na}^+$  en los SE expuestos a la luz es ligeramente mayor que en la obscuridad, y que la adición de 25 mM de taurina disminuye esta captación en un 15-17% en ambas condiciones de luz y obscuridad.

La acumulación de  $^{14}\text{C}$ -bicarbonato de sodio se ve incrementada en un 27% en aquellos SE expuestos a la luz. La presencia de 25 mM de taurina redujo la captación de  $^{14}\text{C}$ -bicarbonato de sodio en los SE iluminados en un 33% (Tabla V).

#### CAPTACION DE $^3\text{H}$ -AGUA.

En rebanadas de corteza cerebral de mono se ha descrito que el transporte de NaCl en presencia de bicarbonato, la cual se acompaña de la entrada de

TABLA V. EFECTO DE LA LUZ Y DE LA TAURINA 25 mM SOBRE LA CAPTACION DE  $^{22}\text{Na}^+$  Y DE  $^{14}\text{C}$ -BICARBONATO DE SODIO EN SE.

Condiciones de Incubación	Captación (nmolas/ mg de Proteína)	
	$^{22}\text{Na}^+$	$^{14}\text{C}$ -bicarbonato
Oscuridad	154.7 ± 20.5 (3)	79.3 ± 6.5 (5)
Oscuridad + Taurina	132.5 ± 7.5 (3)	74.9 ± 8.5 (5)
Luz	163.1 ± 19.6 (3)	101.2 ± 10.4 (5)
Luz + Taurina	136.2 ± 18.5 (3)	68.2 ± 6.6 (5)

Los resultados son promedios ± S.E.M. del número de experimentos indicados en el paréntesis.

agua y con el consiguiente hinchamiento de las células (7), se presenta en medios con altas concentraciones de potasio.

Con el objeto de explorar esta posibilidad se midió la acumulación de  $^3\text{H}$ -agua equivalente a 250,000 dpm/ 100  $\mu\text{l}$ , en diferentes condiciones experimentales en presencia y en ausencia de taurina.

La tabla VI muestra que la acumulación de  $^3\text{H}$ -agua en los SE expuestos a la luz, se ve incrementada en un 12% con respecto a aquellos mantenidos en la obscuridad.

La adición de taurina 25 mM a los SE expuestos a la luz disminuyó no significativamente la captación de  $^3\text{H}$ -agua.

TABLA VI. EFECTO DE LA LUZ Y DE LA TAURINA 25 mM SOBRE LA CAPTACIÓN DE  $^3\text{H}$ -AGUA EN SE.

Condiciones de Incubación	Captación ( dpm $\times 10^{-3}$ / mg Proteína)
	$^3\text{H}$ -AGUA
Oscuridad	2.5 $\pm$ 0.4 (7)
Oscuridad + Taurina	2.9 $\pm$ 0.3 (3)
Luz	2.8 $\pm$ 0.5 (7)
Luz + Taurina	2.7 $\pm$ 0.2 (3)

Los resultados son promedios  $\pm$  S.E.M. del número de experimentos indicados en el paréntesis.

## DISCUSION

Schultze en 1866 (50), describió el efecto de la luz sobre los segmentos externos aislados de retina de rana a un nivel morfológico, señalando que la luz provocaba la desintegración de las membranas de los segmentos externos; sin embargo en ese momento no se buscaron los mecanismos de acción ó la razón de los efectos observados.

En este trabajo estudiamos el efecto de una serie de componentes del medio iónico, con el fin de determinar cual ó cuales son los iones responsables del fenómeno de desorganización de la membrana. Los resultados mostraron claramente que se requiere de la presencia de bicarbonato y de cloruro de sodio en el medio de incubación, para que se presente el efecto de la luz sobre los SE. Otros componentes del medio como el calcio, el fosfato y el potasio, parecen no estar directamente relacionados con este fenómeno. No pudimos determinar con precisión cual es la naturaleza del fenómeno que causa la desorganización. Una posible explicación para ésto sería la entrada de agua al segmento externo, pero no pudimos medirla claramente.

En rebanadas de SNC se ha encontrado un fenómeno que tiene cierta similitud con lo que se observó en la retina. Bourke (7) y colaboradores describieron que el aumento en la concentración de bicarbonato en el medio de incubación que contenía altas concentraciones de potasio, induce un hinchamiento en rebanadas de corteza cerebral de mono, y que además este hinchamiento está particularmente asociado con aumentos en los niveles intracelulares

de los iones Na y Cl. En este caso también se requiere de la presencia de bicarbonato y de cloro, pero en ese estudio, sí se pudo medir el hinchamiento por la entrada de agua debido al aumento de peso del tejido y por determinación del espacio inulfnico.

Posiblemente la existencia de una bomba  $\text{HCO}_3\text{-Cl}$  podría ser la responsable de mantener los niveles de NaCl y de agua. Se ha descrito la existencia de esta bomba en varios tejidos animales, como son el tejido nervioso y muscular, en sistemas tan diversos como el axón gigante del calamar, las neuronas del caracol, el músculo de los percebes y las branquias de la trucha (46). El funcionamiento propuesto para esta bomba, consiste en un mecanismo dependiente de  $\text{ATP}$  que transporte el bicarbonato externo a cambio de cloro interno. Una vez dentro el bicarbonato se combinaría con protones para producir bióxido de carbono y agua que posteriormente saldrían de la célula para dar protones y bicarbonato nuevamente.

La existencia de una bomba de este tipo no se ha observado en la retina. Sin embargo se ha reportado la existencia de la bomba Na-K en el segmento interno de los fotorreceptores (6) lo cual puede ser indicio de la existencia de un mecanismo similar al sistema de intercambio bicarbonato-cloro en el segmento interno, y que en condiciones fisiológicas podrían regular los niveles fisiológicos de estos iones.

Nuestros resultados indican que la taurina contrarresta el transporte de bicarbonato en los segmentos externos aislados expuestos a la luz, y posi-

blemente sea este el mecanismo de protección de la taurina. Sin embargo hay que hacer notar que los efectos observados en este estudio son únicamente sugerentes de lo que podría ocurrir a nivel fisiológico.

En nuestros experimentos la taurina se encuentra en el medio, mientras que en condiciones fisiológicas, este aminoácido se encuentra en el interior de la célula y sus niveles extracelulares son muy bajos. Sin embargo, puesto que en nuestros experimentos no se observa una gran alteración en el ancho de los segmentos externos sino más bien en la longitud de éstos, podemos pensar que probablemente lo que aumenta a consecuencia del efecto de la luz es la distancia entre los discos más que la distancia entre la membrana celular y las membranas de los discos internos, lo cual podría sugerir que efectivamente la taurina intracelular está actuando para regular la disposición de la membrana.

El mecanismo de acción de la taurina en este sistema, podría diferir con aquel que se presenta en los gatos que sufren una degeneración de fotorreceptores, al ser alimentados durante un determinado periodo de tiempo con una dieta libre de taurina, en que en éstos, sólo se previene ó revierte la degeneración de los fotorreceptores adicionando taurina a la dieta. Ningún otro aminoácido ha sido capaz de prevenir este fenómeno. A diferencia de esto, nuestros resultados muestran que tanto el GABA como la glicina presentan una acción similar a la taurina en cuanto a que protegen a los SE contra la desorganización de la membrana mediada por la iluminación.

El efecto de la taurina sobre la translocación de cationes, en una amplia gama de sistemas estudiados, es compatible con una acción directa sobre

la permeabilidad de la membrana y por lo tanto con una función como estabilizador.

En el sistema que estudiamos encontramos que el transporte afectado por la taurina, requiere de la presencia en el medio de incubación del ión bicarbonato, por tanto el fenómeno inicial podría ser a través del bicarbonato como primera etapa y secundariamente estar involucrado el calcio.

Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren una acción estabilizadora de la taurina a nivel de membrana, y puesto que el medio utilizado reproduce las concentraciones iónicas de los líquidos fisiológicos, es posible anticipar que el efecto observado podría relacionarse con la acción fisiológica de este aminoácido en la retina.

REFERENCIAS

1. Awapara, J. (1956). The taurine concentration of organs from fed and fasted rats. J. Biol. Chem., 218: 571-576.
2. Darbeau, A., Inoue, N., Tsukada, Y., y Butterworth, R.F. (1976). The neuropharmacology of taurina. Life Sci., 17: 669-678.
3. Baskin, S.L., y Dagirmanjian, R. (1973). Possible involvement of taurine in the genesis of muscular dystrophy. Nature, 245: 464-465.
4. Bergeret, B., Chatagner, F., y Fromageot, C. (1956). Etude des decarboxylations de l'acide L-cysteinesulfinique, de l'acide L-cystéique et de l'acide L-glutamique par divers organes du lapin. Influence du phosphate de piridoxal et des groupements thiols. Biochim. Biophys. Acta, 250: 558-567.
5. Berson, E.L., Hayes, K.C., Rabin, A.R., Schmidt, S.Y., y Watson, G. (1976). Retinal degeneration in cats fed casein II. Supplementation with methionine, cysteine, or taurine. Invest. Ophthalmol., 15: 52-58.
6. Bonting, S.L., Caravaggio, L.L., y Canady, M.R. (1964). Studies on Sodium-potassium activated adenosine triphosphatase X. Occurrence in retinal rods and relation to rhodopsin. Exp. Eye Res., 3: 47-56.
7. Bourke, R.S., y Kimelberg, H.K. (1978). The effect of  $\text{HCO}_3^-$  on the

- swelling and ion uptake of monkey cerebral cortex under conditions of raised extracellular potassium. J. Neurochem., 25: 323-328.
8. Chatagner, F., y Bergeret, P. (1952). Désulfination et decarboxylation enzymatiques de l'acide L-cystéine-sulfonique: sa transformation quantitative en alanine et en hypotaurine. Biochim. Biophys. Acta., 9: 141-147.
9. Cohen, A.I., McDaniel, M., y Orr, H.T. (1973). Absolute levels of some free amino acids in normal and biologically fractionated retinas. Invest. Ophthalmol., 12: 686-693.
10. Collins, G.G.S. (1974). The rate of synthesis, uptake and disappearance of  $^{14}\text{C}$ -taurine in eight areas of the rat central nervous system. Brain Res., 447-459.
11. Curtis, D.R., Hosli, L., y Johnston, G.A.R. (1968). A pharmacological study of the depression of spinal neurons by glycine and related amino acids. Exp. Brain Res., 6: 1-13.
12. Curtis, D.R., y Tebécis, A.K. (1972). Bicuculline and thalamic inhibition. Exp. Brain Res., 16: 210-218.
13. Curtis, D.R., y Watkins, J.C. (1960). The excitation and depression of spinal neurons by structurally related amino acids. J. Neurochem., 6: 117-141.
14. Curtis, D.R., y Johnston, G.A.R. (1974). Amino acid transmitters in mammalian nervous system. Ergebn. Physiol., 69:97.

15. Dolara, P., Agresti, A., Giotti, A., y Pasquini, G. (1973). Effect of taurine on calcium kinetics of guinea pig heart. Eur. J. Pharmacol., 24: 352-358.
16. Fromageot, C., Chatagner, F., y Bergeret, B. (1948). La formation de alanine par désulfuration enzymatique de l'acide L-cysteine-sulfonique. Biochim. Biophys. Acta, 2: 249-301.
17. Gruener, R., Bryant, H., Markovitz, D., Huxtable, R., y Bressler, R. (1976). Ionic actions of taurine on nerve and muscle membranes: Electrophysiological studies. En: Taurine. Editado por R. Huxtable y A. Barbeau, pp.225-242. Raven Press, New York.
18. Guidotti, A., Badiani, G., y Pepeu, G. (1972). Taurine distribution in cat brain. J. Neurochem., 19: 431-435.
19. Haas, H.L., y Hosli, L. (1973). The depression of brain stem neurons by taurine and its interaction with strychnine and bicuculline. Brain Res., 52: 399-402.
20. Hayes, K.C., Carey, R.E., y Schmidt, S.Y. (1975). Retinal degeneration associated with taurine deficiency in cats. Science, 188:949-951.
21. Hayes, K.C., Rabin, A.R., y Berson, E.L. (1975). An ultrastructural study of nutritionally induced and reversed retinal degeneration in cats. Am. J. Pathol., 78: 504-524.

22. Hruska, R.E., Thut, P.D., Huxtable, R., y Bressler, R. (1973).  
Taurine: Hypothermic effect in mice. Pharmacologist, 15: 301.
23. Hruska, R.E., Thut, P.D., Huxtable, R., y Bressler, R. (1975).  
Suppression of conditioned drinking by taurine and related compounds.  
Pharmacol. Biochem. Behav., 3: 593-599.
24. Huxtable, R., y Bressler, R. (1972). Taurine and isothionic acid dis-  
tribution and interconversion in the rat. J. Nutr., 102: 805-814.
25. Huxtable, R., y Bressler, R. (1974). Taurine concentrations in con-  
gestive heart failure. Science, 184: 1187-1188.
26. Huxtable, R. (1976). Metabolism and function of taurine in the heart.  
En: Taurine. Editado por: R. Huxtable y A. Barbeau, pp.99-119. Raven  
Press, New York.
27. Izumi, K., Donaldson, J., Minnich, J.L., y Barbeau, A. (1976). Qua-  
bain induced seizures in rats: Suppressive effects of taurine and  $\gamma$ -aminobu-  
tyric acid. Can. J. Physiol. Pharmacol., 51: 885-889.
28. Izumi, K., Igisu, H., y Fukuda, T. (1974). Suppression of seizures by  
taurine specific or non specific. Brain Res., 76: 171-173.
29. Jacobsen, J.G., y Smith, L. L.H. (1968). Biochemistry and physiology  
of taurine derivatives. Physiol. Rev., 48: 424-511.
30. Joseph, M.H., y Emeson, P.C. (1976). Taurine and cobalt induced e-

pilepsy in the rat: A biochemical and electrographic study. J. Neurochem., 27: 1495-1501.

31. Korzenbrot, J.I., y Cone, R.A. (1972). Dark ionic flux and the effect of light in isolated rod outer segments. J. Gen. Physiol., 60: 20-45.

32. Lombardini, J.B. (1976). Regional and subcellular studies on taurine in the rat central nervous system. En: Taurine. Editado por: R. Huxtable y A. Barbeau, pp.311-326. Raven Press, New York.

33. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., y Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193: 265-275.

34. Luft, J.H. (1961). Improvements in Epoxy resin embedding methods. J. Biophys. Biochem. Cytol., 9: 409.

35. Macalone, S., Ruggeri, P., De Luca, F., y Tucci, G. (1974). Free amino acids in developing rat retina. J. Neurochem., 22: 887-891.

36. Orr, H.T., Cohen, A.I., y Carter, J.A. (1976). The levels of free taurine, glutamate, glycine, and  $\gamma$ -aminobutyric acid during the postnatal development of the normal and dystrophic retina of the mouse. Exp. Eye Res., 23: 377-384.

37. Orr, H.T., Cohen, A.I., Lowry, O.H. (1976). The distribution of taurine in the vertebrate retina. J. Neurochem., 26: 609-611.

38. Pasantes-Morales, H., Kleithi, J., Ledig, M., y Mandel, P. (1972). Free amino acids of chicken and rat retina. Brain Res., 41: 494-497.
39. Pasantes-Morales, H., Kleithi, J., Ledig, M., y Mandel, P. (1973). Influence of light and dark on the free amino acid pattern of the developing chick retina. Brain Res., 57: 59-65.
40. Pasantes-Morales, H., Bonaventura, N., Wioland, N., y Mandel, P. (1973). Effect of intravitreal injection of taurine and GABA on the chicken electroretinogram. Int. J. Neurosci., 5: 235-241.
41. Pasantes-Morales, H., Kleithi, J., Urban, P.F., y Mandel, P. (1974). The effect of electrical stimulation, light and amino acids on the efflux of  $^{35}\text{S}$ -taurine from the retina of the domestic fowl. Exp. Brain Res., 19: 131-141.
42. Pasantes-Morales, H., Salceda, R., y Gómez-Puyou, A. (1974). Effect of X537A on the release of amino acids in the retina. Biochem. Biophys. Res. Commun., 58: 847-853.
43. Peck, E.J., y Awapara, J. (1964). Formation of taurine and isethionic acid in rat brain. Biochem. Biophys. Acta, 141: 499-506.
44. Rabin, A.R., Hayes, K.C., y Benson, F.L. (1973). Cone and rod responses in nutritionally induced retinal degeneration in the cat. Invest. Ophthalmol., 12: 694-704.
45. Reynolds, E.S. (1963). The use of lead citrate at high pH as an elec-

tronopaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol., 17: 208.

46. Russell, J.M., y Boron, W.F. (1976). Role of chloride transport in regulation of intracellular pH. Nature, 264: 73-74.

47. Sbarbaro, V. (1974). Electroclinical effects of taurine in some epileptic patients. Preliminary results. Acta Neurol. (Napoli), 29: 33-37.

48. Schmidt, S.Y., Berson, E.L., y Hayes, K.C. (1976). Retinal degeneration in cats fed casein: I. Taurine deficiency. Invest. Ophthalmol., 15: 47-52.

49. Schmidt, S.Y., Berson, E.L., Watson, G., y Huang, C. (1977). Retinal degeneration in cats fed casein: III. Taurine deficiency and ERG amplitudes. Invest. Ophthalmol., Vis. Sci., 16: 673-678.

50. Schultze, M.J. (1866). Zur anatomie und physiologie der retina. Arch. Mikrosk. Anat., 2: 175.

51. Sgaragli, G.P., y Pavan, F. (1972). Effects of amino acid compounds injected into cerebrospinal fluid spaces on colonic temperature, arterial blood pressure and behaviour of the rat. Neuropharmacology, 11: 45-56.

52. Shank, R.P., y Aprison, M.H. (1970). The metabolism in vivo of glycine and serine in eight areas of the rat nervous system. J. Neurochem., 17: 1461-1475.

53. Spaeth, D.G., y Schneider, D.L. (1976). Taurine metabolism: Effect

of diet and bile salt metabolism. En: Taurine. Editado por R. Huxtable y A. Barbeau, pp. 35-44. Raven Press, New York.

54. Striano, S., Grasso, A., Buscaino, G.A., y Rerretti, P. (1974). Primi risultati sugli effetti della taurina nella epilossia umana. Acta Neurol. (Napoli), 29: 537-542.

55. Thut, P.D., Hruska, R.E., Huxtable, R. y Brzssler, R. (1973). Effect of taurine on eating and drinking behaviour. En: Taurine. Editado por R. Huxtable y A. Barbeau, pp.357-364. Raven Press, New York.

56. Tiedemann, F., y Gmelin, L. (1827). Einige neue Bestandtheile der Galle de Ochsen. Physik. Chem., 9: 326-337.

57. Van Gelder, N.M., Sherwin, A.L., y Rasmussen, T. (1972). Amino acid content of epileptogenic human brain: Focal versus surrounding regions. Brain Res., 40: 385-393.

58. Van Gelder, N.M., Sherwin, A.L., Sacks, C., y Anderman, F. (1975). Biochemical observations following administration of taurine to patients with epilepsy. Brain Res., 94: 297-306.

59. Welty, J.D., McBroom, M.J., Appelt, A.W., Peterson, M.B., y Rand, W.O. (1976). Effect of taurine on heart and brain electrolyte imbalances. En: Taurine. Editado por R. Huxtable y A. Barbeau, pp.155-164. Raven Press, New York.

60. Yamamoto, K., Yoshitani, Y., Fujiwara, H., y Matsuura, K. (1970).

Study on free amino acids in the retina. Acta Soc. Ophthalmol. Jpn. 74:

1561-1563.